

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina



“Abordaje Genético en Muerte Fetal”

Por

Dra. Kiabeth Robles Espinoza

Como requisito parcial para obtener el grado de
especialista en Genética Médica

Junio 2020

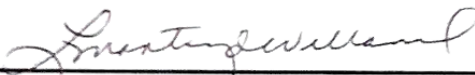
“Abordaje Genético en Muerte Fetal”

Aprobación de la Tesis:



Dra. med. Graciela Areli López Uriarte

Directora de Tesis



Dra. med. Laura Elia Martínez de Villareal

Jefa del Departamento de Genética



Dr. med Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de estudios de posgrado

Dedicatoria y Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a mi madre, gracias a su esfuerzo por siempre querer darme la mejor educación posible y a mi hermana, quien a pesar de los inconvenientes siempre me apoyó.

Agradezco principalmente a la Dra. Areli López, por ser un gran ejemplo para seguir como genetista y una excelente mentora para poder realizar esta tesis

No me gustaría dejar atrás a los profesores que en mi formación de pregrado de alguna manera me enseñaron que iba en el camino correcto el Dr. Ruezga y la Dra. Torrecillas, así como los maestros que me empezaron a inculcar el amor por la genética, la Dra. Bobadilla, el Dr. Jaime y sin dudas la Dra. Susan Gutiérrez que me abrió las puertas de sus proyectos de investigación.

Un gran agradecimiento a mis compañeras de residencia: Shadai, Carolina, Anasofía y Melissa, con quienes pasé buenos y malos momentos y sin quienes la experiencia de la residencia no hubiera sido igual.

Finalmente, no hubiera logrado llegar a este momento sin mis dos roomies, casi hermanas quienes me ayudaron a acostumbrarme a la vida en una ciudad ajena y a quienes eché demasiado de menos cuando se fueron: Guille y Jenny.

A Dios y a la vida por permitirme mantenerme firme a pesar de las adversidades, gracias de todo corazón.

Tabla de contenido

| | |
|--------------------------------------------------------------|--------|
| Capítulo I | Página |
| 1. Resumen..... | 1 |
| Capítulo II | |
| 2. Introducción..... | 2 |
| Capítulo III | |
| 3. Hipótesis..... | 9 |
| Capítulo IV | |
| 4. Objetivos..... | 10 |
| Capítulo V | |
| 5. Material y Métodos..... | 11 |
| Capítulo VI | |
| 6. Resultados..... | 20 |
| Capítulo VII | |
| 7. Discusión..... | 26 |
| Capítulo VIII | |
| 8. Conclusión..... | 33 |
| Capítulo IX | |
| 9. Anexos..... | 34 |
| 9.1 Consentimiento informado..... | 34 |
| 9.2 Consentimiento informado para uso de muestras biológicas | 39 |
| Capítulo X | |
| 10. Bibliografía..... | 42 |
| Capítulo XI | |
| 11. Resumen Autobiográfico | 45 |

Índice de tablas

| Tabla | Página |
|------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1. Condiciones de PCR utilizadas para MLPA..... | 18 |
| 2. Preparación de mix para desnaturalización..... | 18 |
| 3.Características demográficas maternas..... | 21 |
| 4.Características demográficas de los casos de muerte fetal..... | 22 |
| 5.Resumen de hallazgos en casos de muerte fetal..... | 23-25 |

Lista de abreviaturas

OMS: Organización Mundial de la Salud

MLPA: Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples

DNA: Ácido desoxirribonucleico

CMA: Microarreglos cromosómicos

NICHD: National Institute of Child Health and Human Development

SEMEFO: Servicio Médico Forense

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

IMC: Índice de masa corporal

SDG: Semanas de gestación

NGS: Next Generation Sequencing

Capítulo I

Resumen

En México, la mitad de los casos de muerte fetal permanecen sin una explicación; por lo tanto, la finalidad del presente estudio fue detectar las potenciales causas y factores de riesgo para muerte fetal implementando un abordaje multidisciplinario en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Este es un estudio descriptivo, observacional y prospectivo. Se incluyeron los casos de muerte fetal reportados por el Servicio de Obstetricia del 1ero de Octubre del 2019, al 25 de Mayo del 2020.

Como parte del abordaje para muerte fetal se incluyeron las siguientes estrategias: historia clínica genética completa, exploración física del feto, toma de fotografías clínicas; los casos debían contar con ultrasonido prenatal, radiografía simple postnatal, o autopsia fetal. Se realizó amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA), con muestras de cordón umbilical.

En el periodo de estudio se reportaron 33 casos de muerte fetal, de los cuales se incluyeron 21. Cinco madres contaban con exposición a algún agente teratógeno (23.8%), 9 presentaban alguna enfermedad que puede haber contribuido a la muerte fetal (43%) y 12 (57%) de ellas presentaban un incremento en el índice de masa corporal (IMC) prenatal.

A la exploración física fetal se encontraron defectos congénitos en 8 fetos (38%), se contaba con ultrasonido prenatal en 17 casos (81%), radiografía simple en 14 casos (66%) en una se encontraron hallazgos sugestivos de etiología, se logró realizar autopsia en 3 casos, sin datos concluyentes para determinar la causa de muerte fetal. En todos los casos se realizó MLPA, reportado negativo en los 21 casos.

Se identificaron problemas de salud como diabetes y obesidad como factores de riesgo para muerte fetal. Estos factores son prevenibles implementando adecuadas estrategias de control prenatal.

Capítulo II

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define muerte fetal como: muerte previa a la expulsión o extracción completa del producto de la concepción. Según la edad gestacional, se considera muerte fetal a partir de la semana 22 de gestación o bien, que presente un peso al momento del nacimiento mayor de 500 gramos¹.

La incidencia de muerte fetal se calcula de 3-5 por cada 1000 nacimientos². Se estima que ocurren 2.6 millones de casos de muerte fetal cada año; sin embargo, la cifra puede ser subestimada por falta de registro en varios países, así como definición y clasificación inadecuadas³. La incidencia es mayor en regiones en vías de desarrollo, como África y Asia en donde se reportan 28.7 y 25.5 casos por cada 1000 nacimientos, respectivamente⁴.

Hay factores que pueden influenciar la incidencia de los casos de muerte fetal como son las políticas en salud, la economía, la cultura y la religión. En México, la instauración de ciertos programas de salud ha disminuido los casos reportados de muerte fetal, como la instauración del Seguro Popular en 2003 y el Seguro Médico para una Nueva Generación desde 2006. La implementación de estas estrategias disminuyó la tendencia de muerte fetal en -1.9% en un periodo de 2000 a 2013 y la tendencia de muerte neonatal en -2.2%⁴.

A pesar de la importancia que han tenido estas intervenciones en los programas de salud su impacto no puede ser aún del todo esclarecido, ya que los reportes de casos de muerte fetal en México no están completos. La falla en el reporte de estos casos hace imposible poder investigar sus efectos tanto en las familias afectadas como en la sociedad. Llevar un registro adecuado permitirá implementar estrategias de diagnóstico, manejo y seguimiento pre y perinatal, así como establecer medidas preventivas; además, la mortalidad perinatal es un indicador de la calidad en la atención médica en un hospital y en un país^{5,6}.

Las causas médicas de muerte fetal se han clasificado en diferentes categorías: factores maternos, factores fetales y factores placentarios (también llamados combinados). Entre los factores maternos se describen: obesidad, edad materna de riesgo, tabaquismo, diabetes, hipertensión, lupus y enfermedad tiroidea. Los factores fetales incluyen defectos congénitos, los cuales pueden ser de etiología cromosómica, monogénica, multifactorial. Los factores placentarios incluyen: fibrosis placentaria, *abruptio placentae* y anomalías del cordón umbilical (como los nudos verdaderos)^{2,7,8}.

Dentro de los factores fetales, los defectos congénitos son una causa significativa de muerte. Reportes de necropsia de muertes fetales muestran que, entre 25 a 35% tienen defectos congénitos, que se pueden agrupar en defectos aislados (40%), múltiples (40%) y en deformaciones o displasias (20%). Las causas genéticas representan una porción importante de las causas de muerte fetal, la mayoría corresponden a alteraciones cromosómicas, que ocurren entre 6 y 15% de los casos, destacando las aneuploidías, entre las más comunes están la monosomía X (23%), trisomía 18 (21%) y trisomía 13 (8%)². La proporción de alteraciones cromosómicas es mayor en fetos con defectos estructurales.

En México, aproximadamente la mitad de los casos de muerte fetal permanece sin causa explicable y la proporción de esta categoría aumenta con la edad gestacional². Realizar autopsia, estudio de la placenta y cariotipo, disminuyen las posibilidades de que los casos permanezcan sin un diagnóstico preciso^{2,8}.

Para poder realizar una adecuada evaluación de los casos de muerte fetal es necesario estudiar las diferentes causas de la misma, para lo cual es necesario realizar: historia clínica y exploración física detallada, autopsia, estudio de la placenta, estudios radiográficos del feto, estudio citogenético y/o molecular^{8,9,10}.

La historia clínica y exploración física son herramientas de suma utilidad para el estudio de la muerte fetal; en particular la historia médica materna, los antecedentes obstétricos y antecedentes familiares se deben de revisar de manera cuidadosa. En un estudio retrospectivo (Wisconsin Stillbirth Service Project) se encontró que la historia médica materna contribuyó a determinar las causas de muerte fetal en 26% de los casos, con un rendimiento diagnóstico similar al de la autopsia^{7,9}.

Al obtener la historia familiar se debe interrogar intencionadamente sobre antecedentes en otros miembros de la genealogía con defectos congénitos, discapacidad intelectual, pérdida gestacional recurrente, muerte fetal, muerte infantil o a edades tempranas, así como la consanguinidad en la familia⁹.

Para iniciar la exploración física, es prioritario determinar el grado de maceración del feto, que se clasifica en 6 categorías¹⁰:

0: No maceración, el tejido tiene apariencia normal.

I: Descamación que involucra menos del 1% de la superficie corporal total, coloración rojo/rosa, con algunos puntos de decoloración focal.

II: Descamación en cara, abdomen o dorso >1% y <5% de la superficie corporal total, tejido rojo/rosa con decoloración focal, colección de fluido seroso.

III: Descamación >5% de la superficie corporal total, tejido rojo/rosa, mezclado con café.

IV: Coloración café generalizada.

V: Momificación, apariencia gris.

La descripción debe ser lo más detallada posible, apoyándose con un registro fotográfico para evitar olvidar algún punto que pudiera ser la clave en el abordaje; esta exploración física tiene especial atención en la dismorfología y los defectos congénitos, seguida de una adecuada somatometría⁹. Para realizar estas mediciones, preferentemente, se emplean calibre de metal, cinta métrica flexible, regla fija y báscula. Se debe de obtener la talla, perímetros cefálico, abdominal y torácico, segmento inferior y superior, pie y brazada. La somatometría debe ser bilateral, en algunos casos se realizará de manera unilateral dependiendo del grado de maceración del feto^{9,10}.

El estándar para el registro fotográfico de la muerte fetal son las siguientes tomas: proyección anterior y posterior de cuerpo completo; frente, perfil derecho e izquierdo de la cabeza, y fotografías de características físicas que llamen la atención^{9,10}.

En cuanto a los estudios de imagen, se recomienda realizar radiografías simples, estas se consideran un complemento importante a la autopsia, e incluso se considera un adecuado método de evaluación cuando la familia declina la autopsia⁹.

En el reporte del Wisconsin Stillbirth Service Program se encontró que realizar una radiografía de cuerpo completo contribuyó a la confirmación de la causa de muerte en 16% de los casos analizados. Las proyecciones recomendadas para el estudio de muerte fetal son anteroposterior de cuerpo completo idealmente con radiometría de la longitud del húmero y, fémur, con la finalidad de identificar displasias esqueléticas, y proyección lateral de cuerpo completo. Las posiciones recomendadas para la toma de radiografías son: para la anteroposterior de cuerpo completo la cabeza debe de estar en leve hiperextensión con las extremidades superiores en extensión y supinación a ambos costados del feto con las extremidades inferiores también en extensión. En el caso de la lateral las extremidades superiores deben de colocarse sobre el tórax del paciente^{7,9,10}.

Si hay una fuerte sospecha de displasia esquelética se recomienda realizar radiografías adicionales para realizar una evaluación esquelética completa¹⁰.

Por otro lado, la autopsia provee información invaluable para el estudio de la muerte fetal, ayuda a evaluar potenciales daños internos de los fetos que no son identificables con la exploración física detallada; una autopsia típicamente consiste en una examinación externa e interna y también incluye la evaluación de la placenta y el cordón umbilical^{9,10,11,12}.

La evaluación de los órganos internos incluye su medición, pesado, evaluación macroscópica y microscópica, así como evaluación histológica con tinciones especiales si está indicado. En caso de que los padres rechacen la autopsia completa, se puede ofrecer realizar la exploración interna limitada sólo a regiones específicas del cuerpo^{9,10,11,12}.

La placenta y el cordón umbilical son de suma importancia, ya que pueden aportar información valiosa sobre etiología vascular, infecciosa, así como daños ocasionados por preeclampsia/eclampsia, que se han visto asociados a un mayor riesgo de muerte fetal. Hay patologías placentarias que sólo son diagnosticables en la examinación

histológica, asociadas a restricción de crecimiento intrauterino y a mala perfusión. La patología placentaria asociada a muerte fetal se presenta hasta en 65% de los casos, de estas el *abruptio placentae* es la causa placentaria encontrada con mayor frecuencia^{2,9,10,11,12}.

En diversos estudios han reportado que, haciendo autopsia a los casos de muerte fetal, se logra identificar la causa en 50 a 90%; dentro de las cuales, como ya se mencionó previamente, la patología placentaria es la más frecuente, seguida de causas fetales, representadas principalmente por los defectos congénitos^{9,10}.

A pesar del rendimiento diagnóstico que posee la autopsia, el determinar la etiología genética (presente en ~30% de muertes fetales) debe realizarse a través de un estudio citogenético/molecular, para lo cual se requiere la obtención de tejido fetal^{9,10}.

Tradicionalmente, el cariotipo ha sido el método más utilizado^{2,13,14}. El cariotipo es un estudio citogenético en el cual se necesita de proliferación celular, detención del ciclo celular en metafase (en donde se observa el grado máximo de condensación de los cromosomas), un proceso de preparación y fijación de los cromosomas para su posterior tinción y análisis. El cariotipo permite la evaluación de alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales con una resolución de aproximadamente 5-10 Mb y aunque es eficiente al detectar las aneuploidías más frecuentes en muerte fetal, posee ciertas limitaciones^{13,14}.

Las limitaciones del cariotipo en muerte fetal incluyen desde la falla en el cultivo celular, contaminación bacteriana, pobre morfología cromosómica y las limitaciones propias de su resolución que impiden la detección de ciertas microdeleciones o alteraciones cromosómicas por debajo de su rango de detección^{13,14}.

En los casos en los que el cariotipo no puede proveer información por falta de proliferación celular, se puede proceder a realizar MLPA (amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples). Esta prueba es un método semicuantitativo para el análisis selectivo de los cambios en el número de copias del DNA, no requiere de proliferación celular y en este se realiza una discriminación de longitud de los productos de ligación para la detección de aneuploidías en los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21. Sin

embargo este estudio también posee limitantes, principalmente al informar únicamente variantes en el número de copias de las aneuploidías más frecuentes¹⁵.

Actualmente un estudio que toma importancia en el abordaje de la muerte fetal son los microarreglos cromosómicos (CMA). El estudio mediante CMA evita también los inconvenientes de la proliferación celular, ya que se realiza mediante la extracción de DNA del tejido fetal y permite la detección de alteraciones cromosómicas con una resolución mucho mayor a la detectada por el cariotipo, es decir, evidencia ganancias o pérdidas de material cromosómico en el orden de menos de 1Mb, que en el cariotipo pasarían inadvertidas.

En un estudio realizado por el NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) “Stillbirth Collaborative Research Network”, en el que realizaron cariotipo y microarreglos a 532 muestras obtenidas de muerte fetal, lograron un resultado en 375 (70.5%) y 465 (87.4%) de los casos, respectivamente. De igual manera Rosenfeld *et al* evidenció la eficiencia de los microarreglos para el diagnóstico de la muerte fetal, al detectar por este medio, un resultado en 515 de 535 muestras, fuera por falla en el cultivo, o inclusive, cuando algunos de ellos habían obtenido cariotipo normal^{13,14}.

Las limitantes principales de los microarreglos son: incapacidad para detectar rearreglos balanceados, niveles bajos de mosaicismo y la no obtención de resultados debido a una mala calidad de DNA^{13,14}.

La identificación de la etiología de la muerte fetal presenta múltiples beneficios, los cuales van a derivar en un adecuado asesoramiento genético a las familias, pudiéndoles otorgar la información pertinente acerca de: factores de riesgo, riesgos de recurrencia, estrategias de prevención y técnicas de reproducción^{2,7,8,9}.

La evaluación de la muerte fetal es también un indicador de la calidad de los servicios de salud, la evaluación integral de todos los casos de muerte fetal debe ser una rutina porque permite llegar a un diagnóstico preciso y un asesoramiento específico, sobre todo en las unidades hospitalarias en las cuales se cuenta con las herramientas necesarias para poder realizarlo^{2,4}. Sin embargo la muerte fetal en México es una entidad poco

estudiada, de la cual no existe un adecuado registro, esto principalmente debido a la falta de consenso sobre la definición de muerte fetal y sobre las medidas que se deben de tomar al reportarse un caso^{2,4}.

De igual manera, representa un estigma social tanto para las familias como para los médicos, por lo cual no se lleva un seguimiento adecuado de los casos; por lo tanto, no se integran diagnósticos finales y no es posible asesorar a las familias para futuras gestas².

El abordaje y seguimiento de la muerte fetal es un proceso que amerita de una participación multidisciplinaria, en la que es necesario que cada una de las especialidades involucradas realice su aporte para poder llegar a una conclusión del caso. La falta de responsabilidad acerca de quién debe de abordar los casos de muerte fetal, también ha sido un impedimento para el correcto estudio de la misma^{2,7,8,10}.

En el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” hay aproximadamente 9 mil nacimientos por año. En 2016 se comenzó un registro de muertes fetales por el Departamento de Genética, en el cual de 10 de agosto de 2016 al 9 de agosto de 2017 se obtuvo un registro de 54 casos de muerte fetal y en el periodo de 10 de agosto 2017 al 23 de julio 2018, se registró un total de 46 casos, con una incidencia de 5 a 5.8 por cada 1000 nacimientos.

En dicho registro sólo se toman datos básicos respecto a los antecedentes heredofamiliares y perinatales, se revisa a los fetos macroscópicamente, en caso de sospecha de etiología cromosómica, se toma muestra de cordón umbilical y se les ofrece a los padres realizar análisis citogenético, y se les hace la recomendación de realizar autopsia fetal.

Sin embargo, a pesar de que se cuenta con un registro, la información recabada, así como el seguimiento de los casos no es suficiente, ya que son escasas las familias que deciden continuar con el abordaje, siendo el factor socioeconómico de las familias una limitación importante. De manera que surge la necesidad de realizar un abordaje integral sobre los casos de muerte fetal, en el que se tenga la oportunidad de realizar todos los estudios pertinentes para el estudio de esta entidad.

Capítulo III

Hipótesis

El abordaje genético de la muerte fetal permitirá determinar el diagnóstico etiológico en el 25-35% de los casos, para otorgar el asesoramiento genético adecuado.

Capítulo IV

Objetivos

Objetivo General

Establecer un algoritmo diagnóstico multidisciplinario para determinar el diagnóstico etiológico de los casos de muerte fetal en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Objetivos Específicos

1. Elaborar historia clínica genética para determinar antecedentes familiares y/o factores de riesgo de importancia.
2. Realizar cariotipo en todos los casos de muerte fetal con la finalidad de detectar alteraciones cromosómicas numéricas y/o estructurales.
3. Realizar MLPA o microarreglos en los casos donde no sea posible realizar cariotipo por falta de crecimiento celular.
4. Realizar autopsia y/o estudio de imagen para evaluar las causas fetales y maternas de muerte fetal.
5. Brindar asesoramiento genético a las familias con base a los resultados obtenidos.

Capítulo V

Material y métodos

Tipo de estudio

Este es un estudio descriptivo, prospectivo y observacional. La población de estudio se compone de todos los casos de muerte fetal reportados en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en el periodo del 1ero de Octubre de 2019 al 25 de Mayo del 2020.

-Criterios de inclusión:

- Muerte fetal de 22 semanas de gestación o más, con peso mayor o igual a 500 gramos, reportadas a genética por obstetricia.
- Madre mayor de edad.
- Los casos de muerte fetal deben contar con al menos con uno de los siguientes: autopsia o estudio de imagen (radiografía- ultrasonido prenatal).
- Se debe contar con consentimiento informado para participación en protocolo Abordaje Genético en Muerte Fetal, con el cual se accede a toma de muestra de cordón umbilical para realizar estudio citogenético/molecular (cariotipo, MLPA, microarreglos).
- Los casos deben de ser reportados dentro del periodo establecido.

-Criterios de exclusión:

- Casos de muerte fetal fuera del periodo establecido
- Incumplimiento de semanas de gestación o peso considerados.
- Datos de extrema maceración, grados IV y V de la escala de maceración.

-Criterios de eliminación:

-Muestras biológicas para análisis citogenético/molecular insuficiente o contaminadas.

Cálculo de muestra

En el año 2018 el departamento de genética registró 46 casos de muerte fetal, sin embargo, se incluyeron todos los casos sin una definición estricta. Utilizando esta referencia como la población general de muerte fetal, se realizó un cálculo de muestra con el software Raosoft® Sample Size Calculator con intervalo de confianza de 95% con un tamaño de muestra ideal de 42 casos en un año.

Diseño

Los casos de muerte fetal fueron reportados al Departamento de Genética por el servicio de Obstetricia, esto se realizaba al ingresar la madre a urgencias obstetricia, de esta manera el personal del Departamento de Genética acudía a informar respecto de protocolo y firmar consentimientos informados. Los consentimientos se presentaban por escrito, a la madre (o padre) constando de tres consentimientos, uno en el que se le explica el propósito del estudio y se solicita su participación en el mismo, se le otorgará el consentimiento que el Departamento de Patología establece para la realización de autopsias fetales y un consentimiento para la extracción y almacenamiento de DNA.

Al pasar la paciente a expulsivo se notificaba de nuevo a Genética para proceder a la exploración física, somatometría, toma de fotos clínicas y toma de muestra de cordón umbilical, la cual posteriormente se trasladaba al Departamento de Genética para su registro mediante código y de esta manera mantener la confidencialidad. Las muestras de cordón umbilical se conservaban en refrigeración hasta su posterior procesamiento, lo cual se detallará en un apartado más adelante.

En caso de contar con consentimiento para realizar autopsia y se cumplieran los requisitos solicitados por el Departamento de Anatomía Patológica: menos de 6 horas de expulsión, consentimiento de patología para realizar autopsia firmado por madre o padre, copia de certificado de muerte fetal y resumen con datos de relevancia para la

autopsia; se notificaba al residente de guardia de este departamento quien acudía a SEMEFO (Servicio Médico Forense) a realizar la autopsia, de la cual se reportaban los hallazgos por medio de un reporte escrito, un mes después.

En los casos en que la notificación de muerte fetal se realizara posterior a que la paciente pasara a el área de expulsivo, se esperaba a la estabilización de la misma para la firma de consentimiento y proceder con las acciones previamente descritos.

En los casos en que el reporte de muerte fetal se realizara fuera del periodo establecido por Anatomía Patológica para realizar la autopsia o no se contara con autorización para realizar la misma, se procedía a llevar al producto a realizar radiografía simple, para realizar este traslado es necesario que el producto se encuentre en SEMEFO, se realizaba una carta en la que se solicitaba traslado del producto al servicio de radiología en el área de urgencias del Hospital Universitario.

En el área de radiología se entregaba solicitud proporcionada por el mismo departamento donde se constaba que nuestros pacientes forman parte de un protocolo de tesis. Se registraban en el sistema de estudios de imagen Carestream Vue Motion, bajo el nombre materno y se realizaba radiografía simple. La cual se revisaba posteriormente de manera electrónica en el sistema ya mencionado buscando principalmente datos de displasia esquelética o afectaciones óseas de enfermedades infecciosas. El producto era regresado por mismo personal de SEMEFO.

Una vez terminados los procedimientos se indicaba a los padres que se les realizaría notificación vía telefónica cuando estuvieran listos los resultados del abordaje y de esta manera pudieran acudir a recibir asesoramiento en la consulta de genética.

Cariotipo

Este es un estudio de citogenética convencional que permite la detección de alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales con una resolución de 5-10 Mb. Para realizar el mismo se consta de diferentes pasos:

Siembra

- 1- En campana de flujo laminar en laboratorio de citogenética se fragmenta la muestra obtenida de cordón umbilical en placa de Petri con una hoja de bisturí.
- 2- Una vez obtenidos pequeños fragmentos del tejido se pasan a frasco de cultivo T25 con 1 a 1.5 ml de medio AmnioMax y 100 µl de antibiótico.
- 3- Se deja cultivo T25 en incubadora de CO₂.
- 4- A la semana de la siembra se evaluaba crecimiento celular mediante microscopio invertido.
- 5- Si se contaba con crecimiento celular adecuado se procedía a la cosecha, si este aún no era óptimo o no se evidenciaba, se alimentaba el tejido con más medio AmnioMax con base a necesidad de cada tejido en particular.
- 6- Se daba una semana más de crecimiento celular, posterior a la cual se vuelve a evaluar crecimiento celular, en caso de que este no se lograra, se desecha cultivo y se procede a realizar extracción de DNA y MLPA. En caso de crecimiento óptimo se procede a cosecha.

Cosecha

- 1- Para realizar la cosecha primero se debe levantar el tejido, para lo cual se desecha sobrenadante y se debe de colocar 4 ml de Tripsina .25% y se ingresa por 5 minutos a la incubadora de CO₂.
- 2- Se revisa al microscopio invertido para verificar crecimiento celular.
- 3- Se realizan ligeros impactos a la T25 para levantar el tejido.
- 4- Se agregan de 3-5 ml de medio AmnioMax para detener la acción de la tripsina.
- 5- El contenido de la T25 se pasa a tubo cónico para centrifugar por 10 min a 1500 rpm, posteriormente se desecha sobrenadante.
- 6- Se agregan 2.5 ml de AmnioMax y se resuspende botón.
- 7- Se colocan 6 cajas de Petri con un cubreobjetos, en los cuales se goteará la muestra hasta que esta se encuentre repartida de manera uniforme en las 6 cajas.
- 8- Se vuelve a dejar en incubadora de CO₂ por 16-18 hrs.
- 9- Se agregan 2.5 ml de AmnioMax a cada caja de Petri.

- 10- Se agrega una gota de Colcemid a cada caja de Petri y se deja actuar 8 minutos en incubadora de CO₂.
- 11- Se extrae contenido con pipeta de 10 ml
- 12- Se agrega con pipeta de 10 ml solución de citrato, 3 ml en cada caja y se deja 30 minutos a temperatura ambiente.
- 13- Prefijación: Se agregan 2 ml de solución fijadora a cada caja se deja por dos minutos y se extrae todo contenido.
- 14- Fijación: Consta de tres pasos en los que se agregan 3 ml de solución fijadora por 20, 15 y 10 minutos.
- 15- Se extrae todo contenido de cada caja uno por uno. Al extraer se utiliza secadora y mechero.
- 16- Ver al microscopio invertido metafases.
- 17- Se levanta cubreobjetos de la caja, se deja en maduración por 48 horas.

Tinción

Se utilizan cinco vasos de precipitado de 10 ml, se colocará portaobjetos en cada uno en el siguiente orden:

- 1- 37 segundos en solución con tripsina
- 2- 1 minuto 30 segundos en Buffer pH 7.2
- 3- 2 minutos 40 segundos en colorante Wright
- 4- 2 minutos 40 segundos en colorante Giemsa
- 5- Se lava con agua destilada y se deja secar
- 6- Se observa tinción en microscopio
- 7- Se monta cubreobjetos en laminilla

Lectura

Las laminillas se asignan a dos citogenetistas quienes leerán 10 metafases cada una en un analizador, posterior a lo cual se realizará reporte en el cual se incluye fórmula cromosómica y cariograma de dos metafases, una de cada citogenetista.

Extracción de DNA

Para la extracción de DNA de cordón umbilical se realizó el siguiente procedimiento:

- 1- En campana de flujo laminar en laboratorio de biología molecular se fragmenta la muestra obtenida de cordón umbilical con una hoja de bisturí.
- 2- Se agregan 1.5 µl de proteinasa K.
- 3- Se agregan 300 µl de solución de lisis celular.
- 4- Se ingresa a equipo Qiacube en donde se programa a 55°C a 900 rpm por una hora y posterior 15 minutos a 65°C a 900 rpm.
- 5- Colocar 1.5 µl de RNasa y dejar a 37°C por 15 min.
- 6- Agregar 100 µl de solución Ppt de proteínas y dejar de 3-5 minutos en hielo.
- 7- Vórtex a alta velocidad por 20 segundos.
- 8- Centrifugar 3 minutos a 14000 rpm.
- 9- Vaciar en un tubo de 1.5 mL con 300 µl de isopropanol.
- 10- Mezclar la muestra por inversión suave, aproximadamente 30 veces.
- 11- Centrifugar 12000 a 14000 rpm por 1 minuto
- 12- Descartar sobrenadante.
- 13- Agregar 300 µl de etanol al 70%, mezclar por inversión.
- 14- Centrifugar por 3 minutos a 12000 a 14000 rpm.
- 15- Descartar sobrenadante y secar la pastilla a temperatura ambiente por 10-15 minutos.
- 16- Agregar 100 µl de solución de hidratación de DNA.

Cuantificación de DNA

Este procedimiento sirve para medir las concentraciones de DNA y evaluar la calidad de los ácidos nucleicos. Se utiliza el equipo NanoDrop ND-8000.

- 1- Se enciende el equipo y computadora acoplada con el software del mismo.
- 2- Se colocan µl de agua grado biología molecular en el pedestal inferior del equipo, se baja el brazo superior del pedestal y se inicia el espectrofotómetro.
- 3- Colocar 2 µl de solución “blanco” (el mismo que se utilizó para disolver el DNA) en el pedestal. La medición del blanco debe ser uno u ocho espectros con

líneas de base relativamente planas cerca de cero. De no ser así limpiar y repetir el proceso hasta lograrlo.

- 4- Para cuantificar las muestras de DNA, colocar 2 µl de la muestra, al medirlo se registra la lectura en ng/µl, así como la calidad del mismo, dado por las relaciones 260/280 y 260/230. Limpiar el pedestal al terminar la medición.

MLPA

Se utiliza el kit SALSA MLPA Probemix P095 Aneuploidy (MRC Holland) que contiene sondas dirigidas a los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21.

- Desnaturalización del DNA e hibridación de sondas
 1. Diluir la muestra de DNA (50 ng/µl DNA) con agua grado biología molecular a 5 µl.
 2. Calentar 8 minutos a 98°C y dejar la muestra hasta enfriar 25°C antes de abrir el termociclador.
 3. Agregar 1.5 µl de SALSA probe-mix y 1.5 µl de MLPA buffer, mezclar por pipeteo suave.
 4. Incubar 1 minuto a 95°C, posteriormente incubar de 16 a 20 horas a una temperatura de 60°C.
- Reacción de ligación
 1. Reducir la temperatura del termociclador a 54°C, añadir 32 µl de mix Ligase-65 a cada muestra y mezclar.
 2. Incubar 15 min, y posteriormente calentar 5 min a 98°C
 3. Por muestra mezclar 3 µl de ligasa buffer A y 3 µl de ligasa buffer B, y 25 µl de agua grado biología molecular.
 4. Agregar 1 µl de ligasa-65 y mezclar nuevamente.
- Reacción de PCR (reacción en cadena de la polimerasa)
 1. Agregar 10 µl de mix de polimerasa.
 2. Mezclar 2 µl de PCR-primers SALSA + 0.5 µl de SALSA polimerasa + 7.5 µl de agua grado biología molecular.
 3. Condiciones de la PCR, las cuales ya se encuentran programadas en el termociclador, quedando de la siguiente manera (Tabla 1).

| Tabla 1 condiciones de PCR utilizadas para MLPA | | |
|--------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Paso | Descripción | Temperatura y tiempo |
| 1 | Desnaturalización | 95°C por 40 segundos |
| 2 | Alineamiento | 60°C por 40 segundos |
| 3 | Extensión | 72°C por 1 minuto |
| 4 | Extensión final | 72°C por 20 minutos |
| 5 | Paso final | 25°C indefinido |

- Desnaturalización de los productos amplificados: se realiza en el laboratorio de secuenciación, se prepara el mix con base al número de muestras que se van a procesar, tomando en cuenta las siguientes cantidades de reacción (Tabla 2)

| Tabla 2 preparación de mix para desnaturalización | |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Reactivo | Volumen (µl) requerido para 1 reacción |
| Formamida | 9.7 |
| GeneScan LIZ 500 | 0.3 |
| Producto de PCR | 2 |

- Colocar en un microtubo de 2 ml la cantidad de mix de reacción que aplique, agitar la mezcla en vortex por 5 segundos y distribuirla en los microtubos de 0.2 ml, previamente rotulados.
- Colocar los tubos en el termociclador, y seleccionar programa para desnaturalizar: 5 minutos a 95°C.
- Provocar choque térmico al pasar a un bloque congelado a -20°C y dejarlos por 5 minutos.
- Después del choque térmico, todas las muestras se colocan en la placa de 96 pozos del equipo ABI 3130 para llevar a cabo la electroforesis capilar, cada vez que se realiza una corrida es necesario efectuar la electroforesis de controles negativo y positivos, para poder determinar la variación en el número de copias.

9. Programar el equipo para que se realice la corrida de las muestras, registrarla con los datos de día, mes año, en que se realizan.
10. Al terminar la corrida, analizar resultado de MLPA con software Coffalyser, instalado en la computadora del laboratorio. El software muestra un patrón de colores para que sea más fácil su interpretación, marcando azules aquellas muestras que presentan ganancia de material genético y de color rojo aquellas que presentan pérdida.

Análisis de resultados

Se generó una base de datos para reportar los hallazgos que se realizaron durante el abordaje incluyendo datos de la historia clínica: datos de la madre, datos del padre, historia clínica obstétrica, somatometría, datos de relevancia a la exploración física, resultados de ultrasonido, radiografía, autopsia: así como resultado de los estudios de citogenética o citogenética molecular. Estos se ingresaron al programa SPSS 21, para calcular frecuencias y medidas de tendencia central.

Capítulo VI

Resultados

Durante el periodo de estudio se reportaron 33 casos de muerte fetal en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en un periodo de octubre de 2019 a mayo del 2020.

Se calcula una incidencia durante en el periodo de estudio de 7 por cada 1000 nacidos vivos, mayor a la reportada en años previos, 2017 y 2018, en los cuales se llevaba un registro menos exhaustivo de muerte fetal y en los que se contaba con incidencia de 5 por cada 1000 nacidos vivos.

De los 33 casos que fueron reportados, sólo 21 se incluyeron en el presente estudio, 6 se excluyeron debido a retraso en la notificación, 3 se excluyeron ya que sus madres eran menores de edad, dos madres decidieron no participar y un caso se eliminó debido a datos de extrema maceración.

Los rangos de edad paterna fueron de 21 a 45 años con una mediana de 28 años, y la edad materna con rango de 18 a 38 años, con una mediana de 25 años. Sólo tres madres presentaban edad materna de riesgo, mayores de 35 años.

De los casos reportados, 5 madres (23.8%) presentaron exposición a algún agente teratígeno (Tabla 3, una paciente puede tener más de una exposición), en 9 casos se reportaron enfermedades maternas (una paciente puede tener más de una enfermedad) (43%) de estas 4 pacientes (44%) presentaban diabetes pregestacional, con mal control metabólico antes y durante el embarazo. El índice de masa corporal (IMC) preparto se encontraba elevado en 12 pacientes (57%) de estas 3 (25%) se encontraba en sobrepeso y 9 (75%) en obesidad.

Dos de los casos se trataban de embarazos gemelares, de los cuales el segundo producto concluyó el embarazo sin alteraciones, ninguna de las parejas del estudio presentaba antecedentes de muerte fetal, una familia tenía antecedente de dos abortos espontáneos a las 5 y 8 semanas de gestación.

| Tabla 3- Características demográficas maternas | |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|
| | Maternas |
| Rango de edad en años (mediana) | 18-38 (25) |
| Consumo de sustancias* (%) | 5/21 (23.8%) |
| Tabaco | 4/5 (80%) |
| Alcohol | 3/5 (60%) |
| Drogas | 1/5 (20%) |
| Enfermedades maternas** (%) | 9/21 (43%) |
| Diabetes Mellitus | 4/9 (44.4%) |
| Sífilis | 2/9 (22.2%) |
| VIH | 1/9 (11.1%) |
| Síndrome de ovario poliquístico | 1/9 (11.1%) |
| Pancreatitis aguda | 1/9 (11.1%) |
| Cáncer de colon | 1/9 (11.1%) |
| Índice de masa corporal preparto elevado (kg/m²) | 12/21 (57%) |
| Sobrepeso ($\geq 25 < 30$) | 3/12 (25%) |
| Obesidad (< 30) | 9/12 (75%) |

*Dos pacientes tienen más de un consumo de sustancias.

**Una paciente presentaba más de dos enfermedades

De las gestas incluidas en el estudio, el 47.6% se trataba del primer embarazo; se presentó la muerte fetal principalmente entre las 29 a 37 SDG (66.6%), se obtuvieron la mayoría vía parto (85.7%) con una proporción de 12 productos femeninos (57%) y 9 masculinos (42.8%). Sólo en dos casos se presentó peso mayor para la edad gestacional, el resto se encontraban en percentiles adecuados para su edad gestacional. El 76.1% de los casos presentaban un grado de maceración I, lo que resultaba de importancia para realizar la exploración física, las características demográficas completas de los casos de muerte fetal se muestran en la Tabla 4.

| Tabla 4. Características demográficas de los casos de muerte fetal | | | | |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Número de gesta | Gesta 1 10 (47.6%) | Gesta 2 a 3 6 (28.5%) | Mayor de gesta 3 5 (23.8%) | |
| SDG | 22-28 sdg 4 (19%) | 29-37 sdg 14 (66.6%) | >37 sdg 3 (14.2%) | |
| Vía de nacimiento | Parto 18 (85.7%) | | | Cesárea 3 (14.2%) |
| Sexo del producto | Femenino 12 (57%) | | | Masculino 9 (42.8%) |
| Peso del óbito | 500-999 g 8 (38%) | 1000-1999 g 6 (28.5%) | 2000-2499g 1 (4.7%) | >2500 g 6 (28.5%) |
| Maceración (grados, n) | Grado 0: 1 (4.7%) | Grado I: 16 (76.1%) | Grado II: 2 (9.5%) | Grado III: 2 (9.5%) |

De manera prenatal, 17 pacientes (81%) contaban con algún ultrasonido de los cuales 9 (53%) mostraban alguna alteración (Tabla 5). Sólo uno de los casos contaba con consulta en genética de manera prenatal referida por los hallazgos ultrasonográficos, realizándose cariotipo en líquido amniótico, el cual se reportó sin alteraciones (Caso 1).

A la exploración física, se encontraron defectos congénitos en 8 (38%) de los productos, los cuales se desglosan en la Tabla 5. Se les realizó radiografía simple a 14 de los productos (66%), sólo en uno de los casos se detectó una alteración la cual llevó al diagnóstico etiológico de sífilis congénita. En el 100% de los casos los resultados de MLPA se reportaron sin alteraciones. Sólo se realizaron 3 autopsias que cumplieron las condiciones de anatomía patológica, cuyos resultados no fueron concluyentes para determinar la causa de la muerte fetal (Tabla 5).

Tabla 5: Resumen de hallazgos en casos de muerte fetal

| Caso | Sexo | SDG | Ultrasonido prenatal | Evaluación dismorfológica | Rayos X | Autopsia | MLPA | Factores de riesgo de importancia |
|------|------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|-----------------------------------------------------------------|
| 1 | F | 33 | Holoprosencefalia alobar, meningocele parietal, defecto septal ventricular perimembranoso, labio y paladar hendido, arteria umbilical única | Fisuras palpebrales orientadas hacia arriba, labio y paladar hendido derecho, microtia grado 2 derecha, aplasia cutis, arteria umbilical única | No se realizó | No se realizó | Normal | Diabetes Mellitus tipo 2 pregestacional materna no controlada |
| 2 | M | 29 | Sin alteraciones | Sin datos | No se realizó | No se realizó | Normal | Madre con cáncer de colon con quimioterapia durante el embarazo |
| 3 | F | 31 | No se realizó | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Madre con síndrome de ovario poliquístico |
| 4 | F | 22.6 | No se realizó | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Diabetes Mellitus tipo 2 pregestacional materna |
| 5 | M | 30 | Anencefalia | Anencefalia | Normal | No se realizó | Normal | Obesidad materna |
| 6 | M | 30.1 | Hidrops fetal | Ascitis | Normal | No se realizó | Normal | Hidrops fetal |
| 7 | F | 34.1 | Sin alteraciones | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Sin factores de riesgo |
| 8 | F | 34.2 | Intestino hiperecogénico, edema de cuero cabelludo y pared abdominal. | Sin datos | Lesiones óseas sugerentes de sífilis congénita | No se realizó | Normal | Madre con VIH, sífilis y sobrepeso. |
| 9 | M | 27.3 | Labio y paladar hendido, holoprosencefalia, polidactilia. | Frente corta, fisuras palpebrales orientadas hacia arriba, puente nasal plano, labio y paladar | No se realizó | Holoprosencefalia alobar, órganos inmaduros, causa de muerte: defectos congénitos no | Normal | Madre con diabetes tipo 1 pregestacional |

| | | | | | | | | |
|----|---|------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------|------------------------------------------------------------|
| | | | | hendido central, apéndices preauriculares izquierdos, polidactilia preaxial izquierda. | | compatibles con la vida. | | |
| 10 | M | 31 | No se realizó | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Madre con sobrepeso y sífilis |
| 11 | F | 39 | Sin alteraciones | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Madre con obesidad |
| 12 | F | 32 | Restricción de crecimiento intrauterino desde las 22 semanas de gestación. | Pie equino varo bilateral | No se realizó | No se realizó | Normal | Embarazo gemelar |
| 13 | M | 33 | Sin alteraciones | Defecto transversal terminal en extremidad superior izquierda | No se realizó | Corioamnionitis aguda, involución aguda del timo, órganos con inmadurez, autólisis avanzada | Normal | Diabetes Mellitus tipo 2 pregestacional y obesidad materna |
| 14 | M | 34 | No se realizó | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Embarazo gemelar, sobrepeso materno |
| 15 | F | 30 | Sin alteraciones | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Madre con pancreatitis aguda, obesidad materna |
| 16 | F | 22.1 | Sin alteraciones | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Edad materna de riesgo, obesidad materna |
| 17 | F | 29 | Placenta previa total | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Obesidad materna, placenta previa, edad materna de riesgo |
| 18 | F | 32 | Oligohidramnios, doble circular de cordón. | Sin datos | Normal | No se realizó | Normal | Obesidad materna, oligohidramnios, circular de cordón |
| 19 | M | 29 | Porencefalia frontoparietal bilateral, hemorragia | Hipertelorismo, pterigium en rodillas, codos y pies | Normal | Autólisis masiva | Normal | Sin factores de riesgo, se sugiere causa monogénica |

| | | | | | | | | |
|----|---|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------|----------------|--------|------------------|
| | | | intracraneal grado I, microcefalia, hipoplasia de cuero calloso, hipoplasia cerebelar, hipoplasia del vermis, pequeño para edad gestacional, intestino hiperecogénico, oligohidramnios. | | | | | |
| 20 | M | 35.1 | Sin alteraciones | Pie equino varo bilateral | No se realizó | No se autorizó | Normal | Obesidad materna |
| 21 | F | 38 | Sin alteraciones | Sin defectos congénitos | No se realizó | No se autorizó | Normal | Obesidad materna |

SDG: semanas de gestación. F: femenino. M: masculino.

Capítulo VII

Discusión

La muerte fetal es un problema de salud importante, el conocer y detectar los factores de riesgo en una población es sumamente relevante para plantear estrategias de prevención específicas. Para determinar dichos factores de riesgo es necesario implementar las herramientas y algoritmos adecuados que permitan su correcta identificación.

En el presente trabajo se propuso un abordaje en donde se empleó: historia clínica genética, exploración física, registro fotográfico, estudio de imagen (ultrasonido prenatal, radiografía simple posnatal), autopsia y MLPA.

Como se mencionó previamente, la historia clínica genética y la exploración física detallada son instrumentos cruciales para el estudio de la muerte fetal, su aplicación completa logra determinar las causas hasta en un 26% de los casos^{5,6}. En nuestro trabajo, se detectaron factores de riesgo de importancia para muerte fetal, a través de la historia clínica y exploración en por lo menos 16 de los casos incluidos, representando esto una utilidad del 76% para determinar la probable etiología causal.

Esto reafirma la importancia de realizar una historia clínica completa, la cual se recomienda ser realizada por un genetista, para que de esta manera se cuente con el adecuado conocimiento tanto de factores de riesgo de muerte fetal, así como la detección de antecedentes heredofamiliares de importancia⁹.

Al igual que para la realización de la historia clínica la exploración física se recomienda realizar por personal que tenga conocimientos de dismorfología, el grado de maceración será determinante para facilitar la exploración física, los grados 0-III¹⁰, permiten esta adecuada inspección, en el presente trabajo la mayoría de los casos presentaban grado I, permitiendo realizar una adecuada revisión dismorfológica, lo que ayudó a la detección de 8 casos en los que se presentaban defectos congénitos.

Si bien los defectos congénitos no se pueden considerar causales *per se* de la muerte fetal en todos los casos, son sugerentes también de cierta etiología causal, sobre todo al

relacionarse con los datos obtenidos en la historia clínica, ya que esto nos puede ayudar a realizar diagnósticos diferenciales entre causas sindrómicas y multifactoriales.

Respecto a los estudios de imagen, en aproximadamente el 3% de los ultrasonidos prenatales, se puede detectar alguna alteración estructural, que puede ir desde un defecto menor hasta múltiples defectos los cuales pudieran ser letales¹⁶. La detección de alteraciones en el ultrasonido puede ser importante para el desenlace del embarazo, por lo tanto, debería formar parte del control prenatal de toda mujer embarazada¹⁷.

Durante el desarrollo de nuestro trabajo, detectamos que sólo 17 mujeres contaban con un ultrasonido prenatal y de estos, 53% mostraba una alteración. Esto nos refleja que no todas las mujeres en nuestra población tienen adecuado control prenatal, y de igual manera que la exploración física, aunque no todas las alteraciones que se puedan observar mediante el ultrasonido prenatal pueden ser consideradas causales de la muerte fetal, sí pueden sugerir tanto etiología fetal como placentaria, principalmente.

Las radiografías simples son otro estudio de imagen cuya relevancia también ha sido destacada en el estudio de muerte fetal, llegándose a considerar como un estudio satisfactorio, cuando la autopsia no se puede realizar⁹, su efectividad se califica con un 16% de detección de causas de muerte fetal¹⁰; sin embargo, en nuestro protocolo, se encontraron sólo hallazgos sugerentes de etiología causal en uno de los casos, donde se identificaron lesiones compatibles con sífilis congénita. Por lo tanto, en nuestro estudio no se demostró tal relevancia de la radiografía simple, se pudiera sugerir realizarla principalmente en casos en los que se tenga una sospecha de patología esquelética¹⁰.

La autopsia es considerada por diversos autores como el estudio más útil para los casos de muerte fetal ya que es capaz de identificar defectos que no son valorables por simple exploración física. Para que esta se considere completa, debe contar con análisis de placenta y cordón umbilical^{7,9,10}. Se considera se pueden identificar las causas de muerte fetal hasta en un 90% de los casos por este medio⁹. Sin embargo, para maximizar la efectividad de la autopsia es importante el tiempo que pasa desde la muerte fetal a la realización de la misma, mientras mayor sea este lapso de tiempo, disminuye la eficiencia de la autopsia¹¹.

El Departamento de Patología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, provee ciertas especificaciones para la realización de autopsias en los que no deben de pasar más de 6 horas del fallecimiento para poder realizar el procedimiento. Sin embargo, en el caso de muerte fetal es difícil establecer con certeza el momento en que el producto fallece, por lo que, al momento de la expulsión, este puede llevar más tiempo de fallecimiento que el requerido para realizar autopsia.

Esto pudo haber afectado la falta de resultados informativos reportados en los casos en los que se realizó autopsia, sin embargo, al haberla logrado realizar sólo en tres de los pacientes incluidos, no se cuentan con argumentos suficientes para afirmar o invalidar su utilidad en el estudio de muerte fetal. Se deberán mejorar los tiempos de notificación de muerte fetal para poder completar el abordaje y de esta manera lograr realizar este procedimiento.

Estas limitaciones se han observado ya en otros estudios en los que también en casos de muerte fetal evaluados tanto por ultrasonido prenatal como por autopsia no fueron detectados defectos congénitos que justificaran la causa de muerte fetal. Sin embargo, algunas patologías que se han reportado en muerte fetal como canalopatías así como cardiomiopatías, se pueden presentar en los casos en los que no se detectan alteraciones aún por medio de la autopsia¹⁸. Así que, aunque la autopsia se considera el estudio en muerte fetal con mejor rendimiento diagnóstico, tampoco excluye todos los casos en los que se pudiera tratar de etiología genética.

La etiología genética en muerte fetal se puede encontrar en un 25-35%², de estas el 6-12% son alteraciones cromosómicas⁷, por lo que se consideró en un primer tiempo el cariotipo como el estudio de primera línea ^{2,13,14}. Sin embargo, en la actualidad se consideran los CMA como el estudio de elección^{13,14}.

En el presente protocolo se decidió utilizar el MLPA, un método que requiere de extracción de DNA, sin embargo, sólo contiene sondas dirigidas a los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21, que, aunque son las aneuploidías que se presentan con mayor frecuencia en muerte fetal⁷, no descartamos otras etiologías cromosómicas por este método y menos aún otras causas genéticas como la etiología monogénica.

Por lo tanto, aunque no se haya identificado etiología genética por el método empleado en este trabajo, no se puede descartar esta causa en los pacientes, hasta realizar estudios genéticos más amplios.

Gracias al surgimiento de nuevas tecnologías para la secuenciación como el Next Generation Sequencing (NGS), en muchas disciplinas es ahora estándar el uso de estudios como el exoma clínico. El exoma clínico es particularmente útil para realizar diagnósticos en casos catalogados previamente como “inexplicables”, particularmente en la niñez (20-30% de estos casos) y en el caso de fetos con alteraciones estructurales (10-20%). Debido a la sospecha de una alta contribución genética en los casos de muerte fetal, se debiera considerar utilizar esta herramienta para lograr un mayor rendimiento diagnóstico¹⁸.

En un estudio publicado recientemente en The New England Journal of Medicine, se realizó secuenciación de exoma en 246 casos de muerte fetal, en donde reportan hallazgos positivos en 15 casos, 9 con variantes patogénicas en genes previamente descritos en muerte fetal y 6 genes que se consideran candidatos para muerte fetal, con un rendimiento diagnóstico de 6.1%. Seis casos adicionales tenían un fenotipo sugerente para un gen conocido o candidato para muerte fetal, incluyendo estos casos el rendimiento diagnóstico aumentaría a un 8.5%¹⁸.

Es importante mencionar que, en esos casos, los fetos ya contaban con CMA normal y una baja probabilidad de causas maternas u obstétricas de muerte fetal, sumando aquellos casos con resultados positivos en CMA, del total de su población el 18% de los casos se debían a causas genética. Sin embargo, es importante destacar que no contaban con el genotipo de los padres, lo cual es importante para darle relevancia clínica a ciertos tipos de variantes, por lo que el porcentaje de causas genéticas en esta cohorte podría ser mayor¹⁸.

Basándonos en estos resultados, para incrementar el rendimiento diagnóstico de causas genéticas en muerte fetal, se deben considerar como estudio de primera elección CMA y en los casos en que este muestre resultados negativos, complementar con exoma clínico.

Más allá de tratar de identificar etiología genética en los casos de muerte fetal, fue importante la detección de factores de riesgo de importancia para la misma. Problemas de alto impacto en la salud en México como la obesidad y la diabetes, se hicieron presentes en las madres incluidas en el estudio y se perfilan como los factores de riesgo más importantes en nuestra población, resaltando la importancia que tienen los factores maternos para la muerte fetal.

La obesidad materna con un IMC igual o mayor a 30 se ha relacionado de manera directa con muerte fetal¹⁹, sin embargo, no se ha reportado que haya un valor de IMC seguro o protector para la misma; el sobrepeso también se considera como un factor con un riesgo incrementado de causar muerte fetal²⁰.

La diabetes, previa a la gestación (ya sea tipo 1 o tipo 2) se asocia con un riesgo incrementado de productos macrosómicos, defectos congénitos y muerte fetal entre las 36 a 42 SDG^{21,22,23}. Si bien la fisiopatología no está determinada por completo, un estudio realizado por Bradley *et al*, encontró que el pH se encontraba alterado y el lactato elevado en fetos de madres con diabetes, esto en tercer trimestre²⁴. Se sugiere que esta elevación de ácido láctico puede llevar a un metabolismo anaeróbico, causando hipoxia, acidosis y subsecuente muerte fetal²⁵.

Se estima que estos dos factores, diabetes y obesidad, se encuentran presentes en 5.2% de los embarazos²¹, en nuestro estudio se encontró por lo menos uno de ellos en más de la mitad de nuestra población (57%). Si bien tener obesidad o diabetes no descarta en automático a las otras causas de muerte fetal, no se puede ignorar que son un problema de salud actual y creciente, con repercusiones catastróficas en la vida reproductiva de las mujeres, e interesantemente, que son entidades prevenibles.

Otro factor materno de importancia para la muerte fetal son las infecciones, las infecciones materno-fetales pueden representar hasta el 20% de las causas de muerte fetal en países desarrollados, sin embargo, estas cifras podrían ser subestimadas ya que en ocasiones no se busca de manera intencionada esta etiología²⁶.

Infecciones por *E. coli*, citomegalovirus y sífilis, son de las que se reportan con mayor frecuencia en estos casos, usualmente hallazgos a lo largo del abordaje de muerte fetal

sugieren etiología infecciosa, por lo que se sospechan *a posteriori*, sin embargo, no existe un algoritmo para buscar etiología infecciosa cuando no hay otros datos que lo sugieran en el ultrasonido o la exploración física, cursando en la madre muchas veces asintomáticas^{7,26}. Situaciones que pudieran tener mejor cribado de llevarse un adecuado control prenatal.

En nuestro caso, el interrogatorio y hallazgos radiográficos nos orientaron a etiología infecciosa en por lo menos un caso, sin embargo, no se realizaron estudios específicos para descartarla en el resto de los casos.

Otras enfermedades maternas como patologías tiroideas, cardiovasculares, renales, reumatológicas, y cáncer, en estado crónico o agudo se pueden asociar a muerte fetal, sin embargo, la mayoría de las mujeres con estas enfermedades pueden culminar sus embarazos sin alteraciones, por lo que, aunque son relevantes, de manera general no se han considerado convincentemente como causas de muerte fetal, y se debe evaluar cada caso en particular⁷.

Dentro de las causas fetales a parte de las causas genéticas, los embarazos gemelares se consideran otro factor de riesgo, en México, uno de cada 90 embarazos es gemelar, y estos tienen un riesgo incrementado de presentar defectos congénitos (10 veces más que gestas únicas)²⁷, así como riesgo incrementado de muerte fetal, de 23 veces más en monocoriales y 5 veces más en bicoriales²⁸. Parte de la estrategia para disminuir la muerte fetal debe incluir un adecuado manejo de la gesta múltiple y considerar un término temprano de gestación dependiendo del riesgo particular para cada embarazo^{29,30}.

A los factores placentarios se les puede atribuir hasta el 64.9% de los casos de muerte fetal. La identificación de patología placentaria se fundamenta en la evaluación de la misma de manera postnatal, utilizar marcadores de manera prenatal ha resultado poco útil para disminuir el riesgo de muerte fetal³¹.

La patología placentaria se suele asociar a restricción de crecimiento intrauterino y eso a su vez a riesgo incrementado de muerte fetal, sin embargo, no todos los casos de patología placentaria representan restricción de crecimiento y no todos los productos con

restricción de crecimiento culminan en muerte fetal³¹. Por lo tanto, para verdaderamente descartar las patologías placentarias como causa de muerte fetal lo que es necesario es el estudio patológico de la misma, lo cual se debe realizar junto con la autopsia.

En nuestro trabajo, tampoco fue posible analizar la placenta en los casos de muerte fetal ya que esta se suele desechar a la expulsión del producto, por lo que para incrementar la detección de estas causas sería necesario implementar que en todos los casos de muerte fetal se envíe la placenta a estudio anatomopatológico.

Dentro de nuestro trabajo otra exposición que llamó la atención fue el tabaquismo, cuya exposición ya sea activa o pasiva, se ha identificado positivamente como un factor de riesgo para muerte fetal, esto principalmente cuando el producto presenta restricción de crecimiento^{19,32}, cuando esto no sucede el riesgo para muerte fetal se equipara al de la población general.

De manera general, los datos encontrados en este estudio nos hablan de una problemática grave que involucra circunstancias de salud muy prevalentes en México en combinación con una falta de planificación de los embarazos y un control prenatal deficiente y/o tardío. Lo importante al respecto es que la mayoría de los factores de riesgo detectados son prevenibles, es necesario que se implementen estrategias de prevención a través de la educación y difusión de estos problemas observados para crear consciencia de su existencia y potencial susceptibilidad para disminuirlos, tanto en la población en edad reproductiva como en el personal de salud que los atiende, y así conseguir un decremento real en la incidencia de la muerte fetal.

Capítulo VIII

Conclusiones

En conclusión, la muerte fetal en nuestra institución es un problema de salud que amerita continuar implementando su abordaje diagnóstico. Para el adecuado funcionamiento de este abordaje es necesario que exista un consenso de clasificación y definición entre las especialidades involucradas.

Se recomienda realizar en todos los casos de muerte fetal: historia clínica genética y exploración física completa por un genetista, acortar los tiempos de notificación de muerte fetal para realizar la autopsia la cual deberá de incluir en todos los casos el estudio de la placenta y el cordón umbilical. De los estudios de imagen, el que demostró una mayor utilidad fue el ultrasonido prenatal, sin embargo, la radiografía simple aumenta su efectividad cuando se utiliza con una sospecha diagnóstica específica (como una displasia esquelética).

A pesar de que se identifiquen factores de riesgo mediante el interrogatorio a la madre, y dada la frecuencia de causas genéticas en muerte fetal, es necesario realizar un test genético en todos los casos, ya que contar con toda esta información otorgará la posibilidad de poder identificar probables etiologías causales y ofrecer un adecuado asesoramiento genético a la familia.

Capítulo IX

Anexos

9.1 Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN: ABORDAJE GENÉTICO EN MUERTE FETAL

| | |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Título del estudio | Abordaje Genético en Muerte Fetal |
| Nombre del investigador principal | Dra.med. Graciela Arellí López Uriarte |
| Institución | Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González.” Universidad Autónoma de Nuevo León |
| Servicio/Departamento | Genética |
| Teléfono de contacto | (81) 8348-3704 |
| Persona de contacto | Dra. Kiabeth Robles Espinoza |

Esta forma de consentimiento informado puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pídale a su médico del estudio o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara. Su participación en este estudio es voluntaria. Es importante que lea y entienda la siguiente explicación de los procedimientos propuestos. Este documento describe el propósito, los procedimientos, beneficios, riesgos conocidos, molestias, precauciones del estudio, incluyendo la duración y naturaleza de su participación. Usted tiene derecho de retirarse del estudio en cualquier momento. No se pueden dar garantías respecto a los resultados del estudio de investigación. Para ingresar al estudio, usted como sujeto debe de firmar y fechas este documento con la presencia de dos testigos y finalmente recibirá una copia del mismo.

1. Propósito del estudio

La muerte fetal se define como la muerte del producto de la concepción previa a su expulsión. Según la edad gestacional, se considera a partir de la semana 22 de gestación o bien, que presente un peso al momento del nacimiento mayor de 500 gramos. En México permanece sin diagnóstico en aproximadamente la mitad de los casos. Realizar autopsia (estudio anatómico del feto interno y externo) estudio de placenta (órgano que comunica el flujo de sangre de la madre y el feto en el embarazo) y cariotipo (estudio de los cromosomas del feto), disminuyen las posibilidades de que los casos permanezcan sin un diagnóstico. Para poder realizar una adecuada evaluación de los casos de muerte fetal es necesario estudiar las diferentes causas de la misma para lo cual es importante realizar: historia clínica y exploración física detallada, autopsia, estudio de la placenta,

estudios radiográficos del feto, estudios genéticos. La finalidad del presente estudio es llegar al diagnóstico de los casos de muerte fetal, que en el 25-35% se considera de etiología genética, para poder dar el asesoramiento genético adecuado a la familia.

2. Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión:

- Muerte fetal de 22 SDG o más, con peso mayor o igual a 500 gramos, reportadas a genética por el servicio de ginecología y obstetricia.
- Madre mayor de edad
- Al menos con uno de los siguientes: estudio histopatológico (autopsia) o estudio de imagen (radiografía-USG anatómico prenatal)
- Consentimiento informado para toma de muestra de cordón umbilical para realizar estudio genético (cariotipo, MLPA, microarreglos).
- Dentro del periodo establecido (Julio 2019 a Julio 2020).

Exclusión:

- Casos de muerte fetal fuera del periodo establecido.
- Incumplimiento de semanas de gestación o peso considerados.
- Datos de extrema maceración

Eliminación:

- Muestras biológicas para análisis citogenético/molecular insuficiente o contaminadas.

3. Procedimientos

Los casos de muerte fetal serán reportados al Departamento de Genética por el servicio de Ginecología y Obstetricia, quienes conservarán el producto y la placenta. Personal del Departamento de Genética acudirá con la madre o padre para informar acerca del presente estudio y solicitar consentimiento para su participación el mismo. Se le otorgará también consentimiento escrito para realizar autopsia fetal (formato del Departamento de Patología) y consentimiento para extracción de DNA.

Se procederá a realizar historia clínica genética, exploración física, somatometría, toma de fotografías clínicas y muestra de cordón umbilical. Posteriormente el feto será llevado a toma de estudio de rayos X y al Departamento de Patología para realizar la autopsia. Se le indicará a los familiares que acudan a consulta a Genética una vez se hayan completado los estudios realizados a su hijo para recibir asesoramiento genético.

4. Riesgos y molestias

Riesgo mínimo: Se tomará muestra de cordón umbilical, estudio radiográfico y autopsia al feto sólo bajo consentimiento de los padres. No se realizará toma de muestras a los padres

5. Posibles beneficios

Usted podrá verse beneficiado por su participación en este estudio, aunque no hay garantías de que tenga un beneficio directo por participar en este estudio.

Se podrá realizar un abordaje completo de la muerte fetal y recibir asesoramiento genético.

6. Nuevos hallazgos

El médico del estudio le informará a usted acerca de cualquier hallazgo significativo que se desarrolle durante el transcurso de este estudio.

7. Retiro y terminación

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría el derecho del algún otro modo.

8. Costos, reembolsos y pagos

Los procedimientos y pruebas relacionadas con el estudio no tendrán ningún costo, estos correrán a cargo de la institución. Sin embargo, puede incurrir en gastos propios a la atención que normalmente recibiría.

9. Confidencialidad/expediente clínico

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio pero podrá contener otra información acerca de usted. Toda esta información tiene la finalidad de garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución a menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del estudio.

La Facultad de Medicina y el Hospital Universitario, así como el investigador serán responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras (Secretaría de Salud) locales, así como al Comité de Ética de nuestra institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como Secretaría de Salud y Comité de Ética podrán inspeccionar el expediente clínico, la razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como pacientes en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases d datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial.

Al firmar este documento usted, así como su representante autorizan el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información su médico le informará.

Si tiene dudas sobre sus derechos como sujeto en investigación puede comunicarse con el Dr.med José Gerardo Garza Leal, presidente del Comité de Ética tel: 8329-4050 ext.2870-74.

Si tiene dudas con relación a sus derechos como paciente puede comunicarse con el Lic. Antonio Zapata de la Riva tel: 8329-4050 ext. 2870-74

10. Declaración

Reconozco que me han dado la oportunidad de hacer preguntas relacionadas al estudio de investigación y que todas estas se me han respondido de manera clara y precisa.

Entiendo además si tengo dudas relacionadas al estudio deberé notificar al investigador con la siguiente información de contacto.

| | |
|------------------------------------------|------------------------------------|
| Nombre del investigador principal | Dra. Graciela Arellí López Uriarte |
| Teléfono de contacto | 83483704 |
| Teléfono de emergencias | 3311699035 |

Al firmar este consentimiento reconozco que mi participación es voluntaria y que puedo negarme a participar o suspender mi participación en cualquier momento sin sanciones ni pérdidas de los beneficios a los que de otro modo tengo derecho. Acepto además que mi información personal puede utilizarse y transferirse para nuevos estudios de

investigación clínica con la finalidad de brindar más información y así contar con nuevas opciones de tratamiento. Entiendo que mi información puede ser auditada o inspeccionada por agencias reguladoras. Se me entrega una copia del consentimiento informado.

11. Firmas

| | | |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma del sujeto |
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma de testigo 1 |
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma de testigo 2 |

12. Aseguramiento del investigador o miembro del equipo

A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

| | | |
|----------------|---------------------------------------------------------------|----------------|
| _____ Fecha | _____ Nombre de la persona que obtuvo el consentimiento | _____ Firma |
|----------------|---------------------------------------------------------------|----------------|

9.2 Consentimiento para uso de material biológico

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL USO DE MATERIAL BIOLÓGICO Y SU CONSERVACIÓN

| | |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Título del estudio | Abordaje Genético en Muerte Fetal |
| Nombre del investigador principal | Dra. Graciela Arellí López Uriarte |
| Institución | Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González.” Universidad Autónoma de Nuevo León |
| Servicio/Departamento | Genética |
| Teléfono de contacto | (81) 8348-3704 |
| Persona de contacto | Dra. Kiabeth Robles Espinoza |

En el hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” a parte de la atención a los pacientes se realiza también investigación biomédica. La finalidad de este estudio es progresar en el conocimiento de la muerte fetal así como en su diagnóstico causal. Para esta investigación aparte de solicitar información clínica requiere la obtención de material biológico (cordón umbilical) y su uso para estudios genéticos para lo cual es necesario realizar extracción de DNA.

Este se guardará y se dispondrá sin que este hecho le cause molestias adicionales. Las muestras y la información asociada a las mismas serán custodiadas en el Departamento de Genética por un periodo de quince años, y estas no serán utilizadas para crear líneas celulares inmortales.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá de disponer siempre la aprobación del Comité de Ética en Investigación, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales.

A partir de las muestras donadas se realizarán estudios genéticos y a partir de ellos se puede obtener información acerca del estado de su estado de salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

La identificación de las muestras será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será utilizado por los investigadores. Únicamente personal autorizado por el Departamento de Genética podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Asimismo, aunque los resultados obtenidos en la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada.

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información del uso de sus muestras y datos asociados dirigiéndose a: Departamento de Genética, Dra. Kiabeth Robles Espinoza tel: (81) 8348-3704.

Su participación es voluntaria y su negativa no repercutirá en su asistencia médica presente o futura. Si firma el consentimiento informado confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica. Si en un momento quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serán destruidas y los datos asociados a las mismas serán retirados.

Por favor pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento.

Si tiene dudas sobre sus derechos como sujeto en investigación puede comunicarse con el Dr. med José Gerardo Garza Leal, presidente del Comité de Ética tel:8329-4050 ext.2870-74.

Si tiene dudas con relación a sus derechos como paciente puede comunicarse con el Lic. Antonio Zapata de la Riva tel: 8329-4050 ext. 2870-74

Firmas

| | | |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma del sujeto |
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma de testigo 1 |
| _____ Fecha | _____ Nombre completo | _____ Firma de testigo 2 |

Aseguramiento del investigador o miembro del equipo

A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Fecha

Nombre de la persona
que obtuvo el consentimiento

Firma

Capítulo X

Bibliografía

1. Tavares Da Silva F, Gonik B, McMillan M, et al (2016) Stillbirth: Case definition and guidelines for data collection, analysis, and presentation of maternal immunization safety data. *Vaccine* 34:6057–6068
2. Castro DM, Castro Llamas J, González PG, Ríos MA (2012) Alteraciones genéticas y estrategias diagnósticas en muerte fetal. *Ginecol Obstet Mex* 80:313–319
3. Aminu M, Bar-Zeev S, van den Broek N (2017) Cause of and factors associated with stillbirth: a systematic review of classification systems. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 96:519–528
4. Murguía-Peniche T, Illescas-Zárate D, Chico-Barba G, Bhutta ZA (2016) An ecological study of stillbirths in Mexico from 2000 to 2013. *Bull World Health Organ* 94:322–330A
5. Pauli RM, Reiser CA (1994) Wisconsin Stillbirth Service Program: II. Analysis of diagnoses and diagnostic categories in the first 1,000 referrals. *Am J Med Genet* 50:135–153
6. Holmes LB, Nasri H, Beroukhim R, et al (2018) Stillborn Infants: Associated Malformations. *Birth Defects Research* 110:114–121
7. Silver RM, Varner MW, Reddy U, et al (2007) Work-up of stillbirth: a review of the evidence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 196:433–444
8. Tomlinson AJ, Martindale E, Bancroft K, Heazell A (2018) Improved management of stillbirth using a care pathway. *International Journal of Health Governance* 23:18–37
9. Wojcik MH, Brodsky D, Stewart JE, Picker J (2018) Peri-mortem evaluation of infants who die without a diagnosis: focus on advances in genomic technology. *J Perinatol* 38:1125–1134
10. Pinar H, Koch MA, Hawkins H, et al (2012) The stillbirth collaborative research network postmortem examination protocol. *Am J Perinatol* 29:187–202
11. Man J, Hutchinson JC, Heazell AE, et al (2016) Stillbirth and intrauterine fetal death: factors affecting determination of cause of death at autopsy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 48:566–573
12. Page JM, Christiansen-Lindquist L, Thorsten V, et al (2017) Diagnostic Tests for Evaluation of Stillbirth: Results From the Stillbirth Collaborative Research Network. *Obstet Gynecol* 129:699–706
13. Reddy UM, Page GP, Saade GR, et al (2012) Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. *N Engl J Med* 367:2185–2193
14. Rosenfeld JA, Tucker ME, Escobar LF, et al (2015) Diagnostic utility of microarray testing in pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol* 46:478–486
15. Estrada-Juárez, H., Fernández-Hernández, L., Rivera-Pedroza, C., & Grether-González, P. (2012). MLPA (amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples) en el diagnóstico perinatal

rápido de las principales aneuploidías. *Perinatología y reproducción humana / INPer*, 26(3), 172–179.

16. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, et al (2019) Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet* 393:747–757
17. Whitworth M, Bricker L, Mullan C (2015) Ultrasound for fetal assessment in early pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*
18. Stanley, K. E., Giordano, J., Thorsten, V., Buchovecky, C., Thomas, A., Ganapathi, M., Liao, J., Dharmadhikari, A. V., Revah-Politi, A., Ernst, M., Lippa, N., Holmes, H., Povysil, G., Hostyk, J., Parker, C. B., Goldenberg, R., Saade, G. R., Dudley, D. J., Pinar, H., Goldstein, D. B. (2020). Causal Genetic Variants in Stillbirth. *The New England Journal of Medicine*, 383(12), 1107–1116.
19. Gardosi J, Madurasinghe V, Williams M, et al (2013) Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *BMJ* 346:f108–f108
20. Aune D, Saugstad OD, Henriksen T, Tonstad S (2014) Maternal body mass index and the risk of fetal death, stillbirth, and infant death: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 311:1536–1546
21. Tennant PWG, Glinianaia SV, Bilous RW, et al (2014) Pre-existing diabetes, maternal glycated haemoglobin, and the risks of fetal and infant death: a population-based study. *Diabetologia* 57:285–294
22. Rosenstein MG, Cheng YW, Snowden JM, et al (2012) The risk of stillbirth and infant death stratified by gestational age in women with gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 206:309.e1–7
23. Stacey T, Tennant P (2019) Authors' reply re: Gestational diabetes and the risk of late stillbirth: a case-control study from England, UK. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 126:1184–1184
24. Bradley RJ, Brudenell JM, Nicolaides KH (1991) Fetal acidosis and hyperlacticaemia diagnosed by cordocentesis in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *Diabet Med* 8:464–468
25. Dudley DJ (2007) Diabetic-associated stillbirth: incidence, pathophysiology, and prevention. *Clin Perinatol* 34:611–26, vii
26. Page JM, Bardsley T, Thorsten V, et al (2019) Stillbirth Associated With Infection in a Diverse U.S. Cohort. *Obstetrics & Gynecology* 134:1187–1196
27. López-Uriarte A, Aguinaga-Ríos M (2012) Discordancia de defectos congénitos en recién nacidos de embarazos múltiples en el Instituto Nacional de Perinatología. *Perinatol Reprod Hum* 26:08–16
28. Cheong-See F, Schuit E, Arroyo-Manzano D, et al (2016) Prospective risk of stillbirth and neonatal complications in twin pregnancies: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 354:i4353

29. American College of Obstetricians and Gynecologists, Society for Maternal-Fetal Medicine (2014) ACOG Practice Bulletin No. 144: Multifetal gestations: twin, triplet, and higher-order multifetal pregnancies. *Obstet Gynecol* 123:1118–1132
30. Visintin C, Mugglestone MA, James D, et al (2011) Antenatal care for twin and triplet pregnancies: summary of NICE guidance. *BMJ* 343:d5714–d5714
31. Bukowski R, Hansen NI, Pinar H, et al (2017) Altered fetal growth, placental abnormalities, and stillbirth. *PLoS One* 12:e0182874
32. Flenady V, Koopmans L, Middleton P, et al (2011) Major risk factors for stillbirth in high-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 377:1331–1340

Capítulo XI

Resumen Autobiográfico

Mi Nombre es Kiabeth Robles Espinoza soy originaria de Guadalajara, Jalisco. Mi madre Adriana Isabel Espinoza Guzmán, médico general, me inculcó desde pequeña el amor por la medicina.

Llevé a cabo mi educación primaria y secundaria en el Instituto Alpes San Javier, donde incurse también en actividades extraacadémicas como la poesía, oratoria, debate y atletismo.

Mi educación de bachillerato la realicé en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Guadalajara, Preparatoria Santa Anita, donde continué mi participación como capitana del equipo de debate y comencé mi participación en diferentes talleres de danza.

Al finalizar el bachillerato ingresé a la Universidad de Guadalajara a realizar la licenciatura de Médico Cirujano y partero, lugar al que le debo mi formación como médico general y que me ayudó también a descubrir otras áreas de la medicina, como la investigación.

Actualmente estoy finalizando la residencia de Genética Médica en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, que fuera mi lugar de residencia por tres años, y en donde he llevado a cabo mi formación como médico genetista.